

## Konservasi Anggrek Spesies Alam Menggunakan Eksplan Biji pada Media Vacin & Went

(Conservation of Orchid Natural Species Using Seed Explants on Vacin & Went Medium)

Suskandari Kartikaningrum\*, Dewi Pramanik\*, Minangsari Dewanti, Rudy Soehendi, dan M. Prama Yufdy

Balai Penelitian Tanaman Hias, Jl. Raya Ciherang Pacet Cianjur 43253, Jawa Barat, Indonesia

Telp. (0263) 517056, 514138; Faks. (0263) 514138

\*E-mail: pramanik\_dewi53@yahoo.com, suskandari@gmail.com

Diajukan: 20 Juni 2017; Direvisi: 8 September 2017; Diterima: 16 November 2017

### ABSTRACT

Orchid conservation is an important step to hinder a species because their natural habitus is almost threatened. The aims of this study were to determine the ability of orchid species to develop protocorm on Vacin and Went (VW) medium and to determine orchids species that have successfully been conserved through seeds. Forty six natural species of orchids from 18 genera were used in this study. Pollination of the orchids was carried out by selfing or sibling. The fruits were harvested when they changed the color into yellow-green and/or the texture turning soft, then the fruits were sterilized and cultured on VW medium. Observed variables were harvested time, protocorm development, the percentage of protocorm formation, and acclimatization time. The results showed that ripe fruits were obtained after 34 to 280 days after pollination. Seeds of 41 orchid species were able to develop to be protocorm on VW medium on 10 to 169 days after culture. A total of 19 orchid species were capable of forming >70% protocorm and all the protocorms developed into plantlet. Moreover, those 19 species succeeded to be acclimatized from 272 to 552 days after development of the protocorm. Sixteen species were not ready to acclimatize, and six species did not germinate. *Arundina graminifolia* was the fastest orchid to form protocorm, while *Grammatophyllum* sp. took the longest time to form protocorm. *Ascocentrum aurantiacum*, *Aerides odorata*, *Phalaenopsis luddemanniana*, *Phalaenopsis violacea* and *Cymbidium finlaysonianum* were orchids that can not form protocorm. This study indicated that conservation of the orchid natural species could be done through seeds germinated on VW medium.

**Keywords:** orchid, natural species, conservation, seed germination.

### ABSTRAK

Konservasi anggrek spesies alam merupakan langkah penting untuk menghindari kepunahan akibat rusaknya habitat alamnya. Tujuan penelitian ialah mengetahui kemampuan tumbuh biji anggrek spesies alam pada media Vacin dan Went (VW) dan menentukan jenis anggrek spesies yang telah berhasil dikonservasi melalui biji. Anggrek spesies alam yang digunakan sebanyak 46 spesies yang berasal dari 18 genus anggrek, yakni *Phalaenopsis*, *Dendrobium*, *Vanda*, *Ascocentrum*, *Paphiopedilum*, *Rhyncostilis*, *Neofinetia*, *Epidendrum*, *Arachnis*, *Dimorphosis*, *Phaius*, *Spathogottis*, *Trichoglottis*, *Arundina*, *Cymbidium*, *Renanthera*, *Armadorum*, dan *Grammatophyllum*. Polinasi bunga anggrek dilakukan dengan metode *selfing* maupun *sibling*. Buah dipanen saat warna buah berubah menjadi kuning kehijauan dan/atau tekstur buah menjadi lebih lunak. Selanjutnya, sebelum kultur biji, buah disterilkan dan biji disebar pada media VW. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa buah anggrek hasil polinasi mengalami pemasakan antara 34–280 hari setelah polinasi. Biji hasil *selfing* dari 41 anggrek spesies (dari 46) dapat berkecambah pada media VW dengan umur berkecambah berkisar antara 10–69 hari setelah sebar. Sebanyak 19 anggrek spesies alam mampu membentuk protokorm di atas 70% dan semua protokorm mampu membentuk planlet. Selanjutnya, 19 spesies dapat diaklimatisasi dengan kisaran waktu antara 272–552 hari setelah terbentuk protokorm. Sebanyak 16 spesies belum dapat diaklimatisasi karena planlet yang masih kecil, sedang 6 spesies tidak tumbuh. *Arundina graminifolia* merupakan anggrek yang paling cepat membentuk protokorm dan *Grammatophyllum* sp. merupakan anggrek yang paling lama membentuk protokorm. Biji *Ascocentrum aurantiacum*, *Aerides odorata*, *Phalaenopsis luddemanniana*, *P. violacea*, dan *Cymbidium finlaysonianum* tidak mampu membentuk protokorm. Dari penelitian ini diketahui bahwa media VW dapat digunakan untuk konservasi anggrek spesies alam melalui perbanyakan dengan menggunakan biji.

**Kata kunci:** anggrek, spesies alam, konservasi, perkecambahan biji.

## PENDAHULUAN

Tingkat kepunahan anggrek spesies alam di habitat alam menjadi bahan pertimbangan dalam penentuan keputusan konservasi sumber daya genetik (SDG). Prioritas konservasi SDG untuk anggrek spesies alam sebaiknya diutamakan untuk jenis-jenis yang tumbuh di kawasan yang terancam punah. Tingkat endemik beberapa keluarga anggrek sangat tergantung pada kondisi habitatnya. Habitat yang mulai rusak menyebabkan anggrek spesies alam yang endemik tersebut akan mudah mengalami kepunahan (Thomas & Schuiteman 2002).

Di dunia terdapat sekitar 20.000–35.000 spesies anggrek yang terbagi ke dalam 5 subfamili yang tersebar dan tumbuh di puncak gunung sampai dataran rendah (Mabberley 1997 dalam Cribb et al. 2003). Dari jumlah tersebut, sekitar 5.000 jenis terdapat di Indonesia. Kawasan Sulawesi dan Maluku memiliki tingkat endemik yang tinggi, karena 493 jenis (60%) di antaranya ialah jenis-jenis yang endemik (Thomas & Schuiteman 2002). Berbagai upaya perlu dilakukan untuk menjaga agar anggrek tidak punah melalui konservasi *in situ* maupun *ex situ*.

Konservasi anggrek secara *in situ* merupakan pelestarian anggrek di habitat aslinya. Secara alami anggrek berkembang biak dengan biji dan secara vegetatif melalui keiki (anakan) dan rumpun, terutama untuk anggrek simpodial. Biji anggrek sering disebut dengan *dust seed* karena bentuknya yang seperti serbuk halus yang mengandung sedikit sekali persediaan makanan, sehingga anggrek yang tumbuh di alam dapat berkecambah, tetapi tidak akan tumbuh kecuali diinfeksi oleh jamur mikoriza. Mikoriza menyediakan nutrisi, vitamin, dan hormon pada tanaman muda yang diperlukan sampai tanaman tersebut cukup besar dan mampu memproduksi nutrisinya sendiri (Harrison 1977; Harrison & Arditti 1978). Jika biji telah berkecambah, maka biji tersebut akan menghasilkan massa sel yang tidak mengalami diferensiasi yang disebut protokorm (Arditti 1982). Protokorm ini akan tumbuh setelah beberapa minggu, bulan, bahkan tahunan tergantung spesies, sampai tanaman tersebut cukup besar untuk memproduksi daun dan akar.

Terdapat dua tipe dasar perkecambahan *in vitro*, yaitu simbiotik dan asimbiotik (McKendrick 2000). Dalam perkecambahan biji simbiotik, biji ditanam dengan sejumlah jamur mikoriza yang sesuai. Perkecambahan simbiotik digunakan untuk perbanyak anggrek-anggrek di daerah subtropik, tetapi tidak sesuai untuk anggrek di daerah tropik, sedangkan perkecambahan asimbiotik merupakan cara yang sesuai untuk berbagai anggrek daerah tropik. Media untuk perkecambahan asimbiotik lebih kompleks dibanding dengan perkecambahan simbiotik karena semua nutrisi organik dan anorganik serta gula harus siap tersedia untuk pertumbuhan anggrek tanpa perantara jamur.

Banyak anggrek terestrial dan epifit telah berhasil diperbanyak menggunakan teknik perkecambahan biji asimbiotik secara *in vitro* (Chou & Chang 2004; Sahaya Shibu et al. 2012; Malmgren 1992). Media spesifik untuk perkecambahan biji telah banyak dilaporkan pada beberapa anggrek (Johnson et al. 2007; Jualang et al. 2014; Kauth et al. 2008; Khampa et al. 2010; Lesar et al. 2012). Sebagian besar peneliti berkesimpulan bahwa media terbaik untuk anggrek menggunakan media MS, tetapi harus menambahkan zat pengatur tumbuh (ZPT) seperti NAA (Islam et al. 2014), NAA dan BAP (Paudel et al. 2012; Jualang et al. 2014), BA dan TDZ (Khampa et al. 2010), dan BA (Gusta et al. 2011). Penggunaan ZPT menyebabkan perubahan pada anggrek seperti pertumbuhan tanaman cenderung makin pendek/kerdil (Gusta et al. 2011). Perubahan tersebut tidak diinginkan pada koleksi sumber daya genetik, sehingga pada penelitian ini perkecambahan asimbiotik digunakan dengan menggunakan media VW (Vacin & Went 1949) tanpa penggunaan ZPT. Tujuan penelitian ialah mengetahui kemampuan tumbuh biji berbagai jenis anggrek spesies pada media perkecambahan biji (VW) dan menentukan jenis-jenis anggrek spesies yang telah berhasil diperbanyak melalui biji.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan Tanaman

Penelitian ini dilakukan di Rumah Lindung dan Rumah Kaca Balai Penelitian Tanaman Hias (Balithi), Segunung, Jawa Barat, pada ketinggian

tempat 1.100 m dpl dari tahun 2011 hingga 2015. Delapan belas genus anggrek koleksi Balithi, yakni *Phalaenopsis* (11 spesies), *Dendrobium* (11 spesies), *Vanda* (4 spesies), *Ascocentrum* (3 spesies), *Paphiopedilum* (1 spesies), *Rhyncostilis* (2 spesies), *Neofinetia* (1 spesies), *Epidendrum* (1 spesies), *Arachnis* (2 spesies), *Aerides* (1 spesies), *Dimorphosis* (1 spesies), *Phaius* (1 spesies), *Spathogottis* (1 spesies), *Trichoglottis* (1 spesies), *Arundina* (1 spesies), *Cymbidium* (1 spesies), *Renanthera* (1 spesies), *Armadorum* (1 spesies), dan *Gramathophyllum* (1 spesies) digunakan dalam penelitian ini (Gambar 1). Setiap spesies anggrek diambil 1 akses. Penyebaran biji anggrek dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Anggrek Balithi dengan menggunakan media VW (Vacin & Went 1949) dan aklimatisasi dilakukan di rumah kaca di dalam pot tanah liat dengan media pakis.

### Metode Perbanyakan

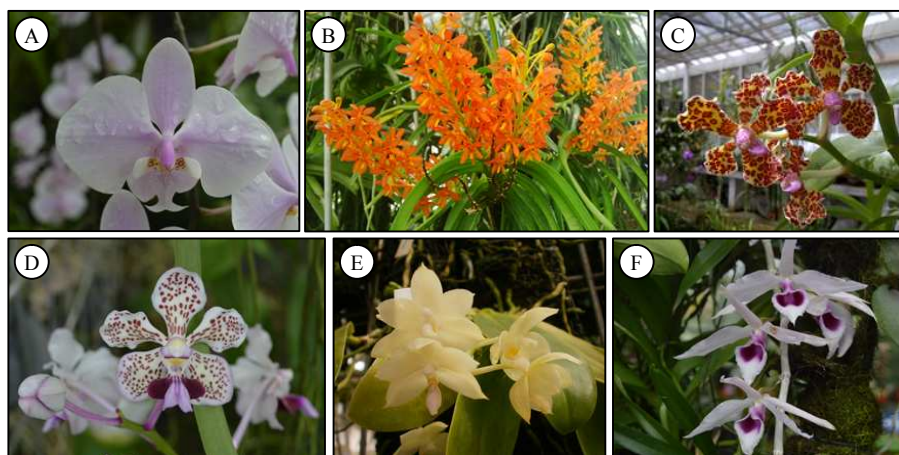
Berbagai anggrek spesies yang berbunga pada periode 2011–2014 diserbuki secara bertahap dengan metode *selfing* (penyerbukan sendiri) atau *sibling* (penyerbukan antarbunga pada satu spesies yang sama). Penyerbukan dilakukan pada satu tanaman dengan jumlah persilangan 1–2 kali dalam satu tanaman. Buah hasil polinasi dipanen pada umur tertentu, dengan kriteria buah masak ialah saat warna buah berubah menjadi hijau kekuningan dan tekstur buah berubah menjadi lebih lunak. Buah tersebut disterilisasi kulit luarnya dengan

menggunakan alkohol 70%, sebelum masuk ke *laminar flow cabinet*. Buah dibawa ke *laminar flow cabinet* untuk disebar bijinya. Buah yang telah bersih dicelupkan dengan alkohol 96% dan dibakar di atas api sebentar. Buah dibelah dan biji ditanam dalam media dasar VW (Vacin & Went 1949) yang dimodifikasi dengan menambahkan 20 g gula pasir, 50 g bubur pisang ambon lumut, 150 ml air kelapa muda, dan dipadatkan menggunakan 7 g agar. pH media diatur menggunakan pH meter pada 5,8. Biji yang telah disebar kemudian diinkubasi pada ruangan dengan suhu 23–25°C, di bawah penyiangan lampu 40 watt. Protokorm anggrek yang terbentuk selanjutnya berkembang menjadi planlet. Planlet yang tumbuh dan telah berakar dengan ukuran 3–4 cm siap untuk diaklimatisasi. Planlet tersebut dibersihkan dengan dicuci pada air bersih dan kemudian direndam dengan larutan fungisida 2% dan dikeringkan. Planlet ditanam pada media pakis di pot tanah liat dan diletakkan di rumah kaca.

### Peubah yang Diamati

Variabel pengamatan meliputi waktu panen buah, waktu biji membentuk protokorm, dan persentase terbentuknya protokorm.

1. Waktu panen buah ialah waktu yang dibutuhkan buah anggrek dari saat polinasi sampai buah masak. Buah yang masak ditentukan dari perubahan warna buah hijau menjadi kuning, atau dari perubahan tekstur buah keras menjadi lunak.



Gambar 1. Spesies-spesies anggrek yang diamati. A = *Phalaenopsis schilleriana*, B = *Ascocentrum miniatum* (*Vanda miniata*), C = *Arachnis celebica*, D = *V. tricolor*, E = *P. rovinio*, F = *Dendrobium anosmum* 'alba'.

2. Waktu biji berkecambah dihitung dengan mengamati saat perubahan biji menjadi protokorm yang ditandai dengan perubahan warna biji menjadi hijau.
3. Persentase pembentukan protokorm dilakukan saat warna biji menjadi hijau (protokorm) dengan menghitung persentase luasan daerah media dengan biji yang berubah menjadi hijau atau menjadi protokorm.

Waktu aklimatisasi dihitung dengan mengamati pertumbuhan protokorm menjadi planlet dari saat sebar hingga planlet siap untuk diaklimatisasi.

### Analisis Data

Setiap aksesori diwakili oleh satu tanaman yang memiliki satu buah dari hasil polinasi. Analisis data dilakukan dengan metode sederhana dengan menghitung rerata hasil pada setiap variabel yang diamati.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pembentukan Buah

Koleksi anggrek Balithi sebagian besar merupakan anggrek asli Indonesia. Anggrek-anggrek yang bukan asli Indonesia ialah *P. schilleriana* Rchb.f., *P. luddemanniana* Rchb.f., *Spathoglottis vanoverberghii* Ames (Filipina), *P. parishii* Rchb.f., *V. coerulea* Griff. Ex Lindl., *A. ampullaceum* (Lindley) Schlechter (India), *Neofinetia falcata* (Thunb.) H.H. Hu (Jepang), dan *Epidendrum* sp. (Kosta Rika). Anggrek tersebut beradaptasi baik di Kebun Koleksi Tanaman Hias Segunung pada ketinggian tempat 1.000 m dpl.

Biji dari 18 genus anggrek alam koleksi Balithi telah ditanam secara *in vitro* di Laboratorium Kultur Jaringan Kebun Percobaan Segunung. Pada perkembangan selanjutnya tidak semua biji dari spesies berhasil tumbuh sampai menjadi planlet yang siap diaklimatisasi, karena beberapa spesies seperti *Cymbidium finlaysonianum*, *P. luddemanianna*, dan spesies *Paphiopedillum* tidak berhasil tumbuh pada media VW (Gambar 2, 3, dan Tabel 1). Hal ini mungkin disebabkan karena saat panen buah yang kurang tepat, media Vacin & Went kurang sesuai,

dan iklim mikro ruang inkubasi yang kurang optimal. Keberhasilan perkecambahan biji anggrek tergantung pada banyak faktor yang kompleks seperti cahaya, kelembapan, suhu, sumber karbon (Rasmussen et al. 2015), dan jarak waktu antara biji masak dengan hilangnya vitalitas biji (Batty et al. 2001). Menurut Dutra et al. (2009), cahaya merupakan penghambat perkecambahan pada banyak spesies anggrek epifit dan terestrial.

Pascapolinasi, stigma sebagian besar anggrek menutup sehingga terjadi pembengkakan ovarium di bagian belakang mahkota bunga yang diikuti dengan pembengkakan buah hingga masak dan buah mencapai ukuran maksimum. Pada tahap buah masak akan mengakumulasi molekul kompleks dalam bentuk karbohidrat, protein, lemak, dan asam organik. Pada saat buah telah dipanen dari tanaman, buah akan tetap sebagai organ yang tumbuh tetapi tidak lagi mendapatkan asupan air dan nutrisi dari tanaman, sehingga asupan energi ke biji menjadi terbatas (Wei et al. 2003). Tahap berikutnya ialah tahap masak yang merupakan tahap dimulainya transformasi biokimia dan fisiologi seperti perubahan warna kulit buah dan kulit menjadi lunak.

Buah anggrek yang masak ditandai dengan perubahan warna buah dari hijau menjadi kekuningan atau kecokelatan (*Phalaenopsis*, *Dendrobium*, *Vanda*, *Ascocentrum*, *Paphiopedillum*, *Rhyncostilis*, *Amororum*, *Renanthera*, *Neofinetia*, *Epidendrum*, *Arachnis*, *Dimorphosis*, *Trichoglottis*, *Cymbidium*, dan *Grammatophyllum*). Namun, terdapat pula beberapa jenis anggrek seperti *Spathoglottis*, *Phaius*, dan *Arundina* yang tidak mengalami perubahan warna buah pada saat masak. Pada jenis anggrek ini buah yang masak dicirikan dengan perubahan tekstur buah yang menjadi lunak. Buah yang lewat masak akan pecah walaupun buah masih berwarna hijau. Hal ini terjadi karena buah masih aktif secara metabolik dan mengalami respirasi yang terjadi dari akumulasi molekul kompleks. Buah anggrek termasuk buah kotak yang memecah dengan celah-celah untuk melepaskan biji-bijinya yang halus dan mudah diterbangkan angin.

Lingkungan tumbuh anggrek juga berpengaruh terhadap pemasakan buah. Buah anggrek yang tumbuh di dataran rendah lebih cepat masak

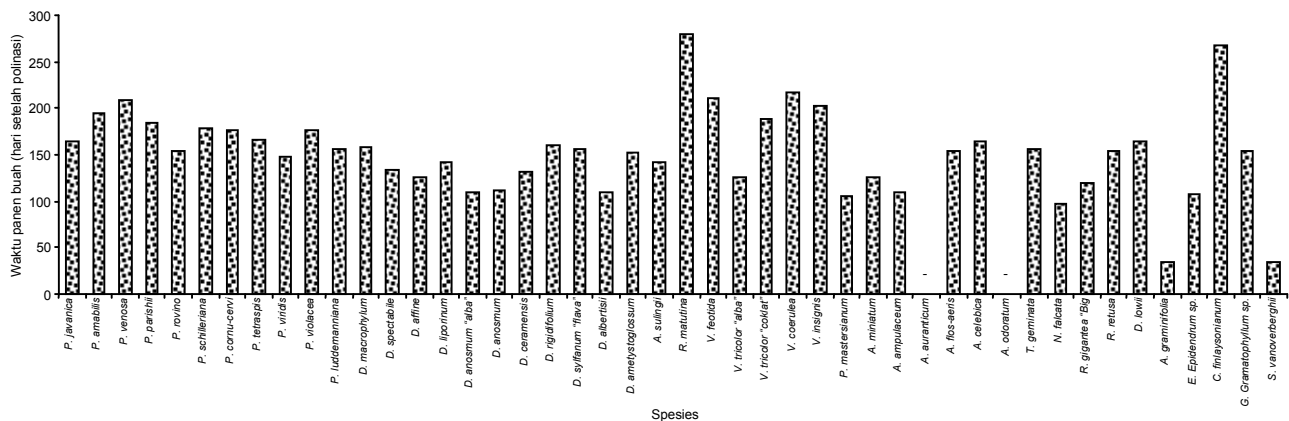
dibanding dengan anggrek yang tumbuh di dataran tinggi, sehingga perkiraan buah masak berdasarkan waktu tidak dapat dijadikan dasar waktu tumbuh. Hasil observasi pemulia menunjukkan bahwa kisaran kemasakan buah *Phalaenopsis* terjadi antara 148–208 hari setelah polinasi (HSP), *Dendrobium* 110–161 HSP, *Vanda* dan kerabatnya 110–280 HSP. Anggrek yang paling cepat masak ialah *Spathoglottis vanoverberghii* (35 HSP) dan terlama ialah *Renanthera matutina* (280 hari) (Gambar 2). Bentuk buah antargenus bervariasi, tetapi tidak ada variasi antarspesies (Gambar 3).

### Perkecambahan Biji

Buah yang telah masak disebar pada media Vacin & Went. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa biji anggrek dari 46 spesies mampu berkecambah membentuk protokorm dengan kisaran

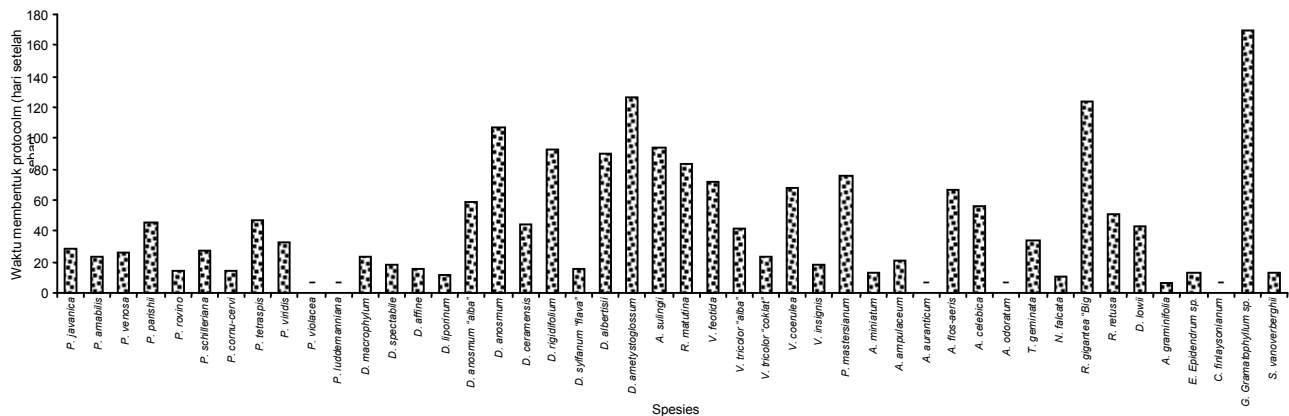
waktu antara 7–169 hari setelah sebar (HSS). Rubulo *et al.* (1989) mendefinisikan perkecambahan sebagai kehadiran protokorm dengan satu promordia daun satu bulan setelah kultur. Waktu pembentukan protokorm tercepat diperoleh pada anggrek *Arundina graminifolia* (7 HSS) dan waktu pembentukan protokorm terlama pada anggrek *Grammatophyllum* sp. (169 HSS) (Gambar 3).

Banyak penelitian tentang perkecambahan berbagai anggrek spesies mendapatkan hasil yang serupa bahwa pertumbuhan protokorm bervariasi antarspesies dan media. Hasil penelitian Prakash *et al.* (2012) pada anggrek *V. tessellata* (Roxb.) Hook. Ex. G. Don menunjukkan bahwa pertumbuhan protokorm tertinggi dicapai pada media MS (90%), diikuti oleh Knudson C (50%), VW (37%), dan RT (Raghavan & Torrey 1964) (20%). Hasil penelitian Nagashima (1993) pada 47 spesies anggrek diperoleh laju perkecambahan biji anggrek berkisar



Gambar 2. Keragaman waktu pembentukan buah (hari setelah polinasi) pada 46 anggrek spesies terkoleksi.

- = tidak terbentuk buah.



Gambar 3. Keragaman waktu pembentukan protokorm pada 46 anggrek spesies terkoleksi.

- = tidak terbentuk protokorm.

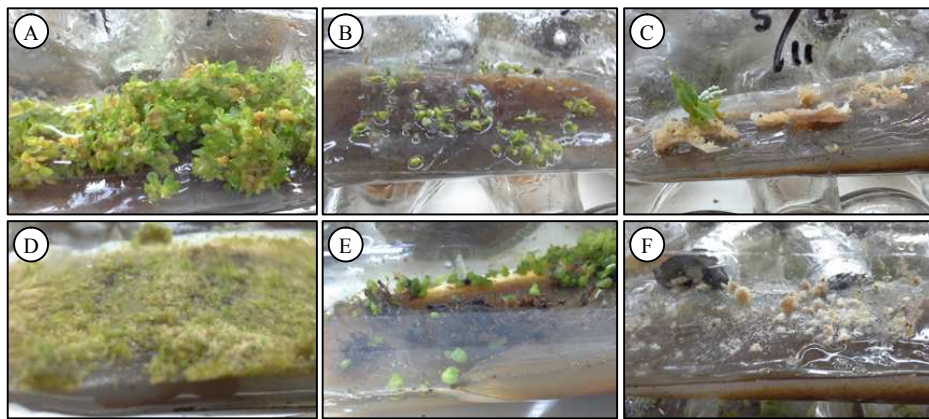


antara 0,8–100% dan waktu berkecambah berkisar antara 3–305 hari tergantung tahap embriogenesis.

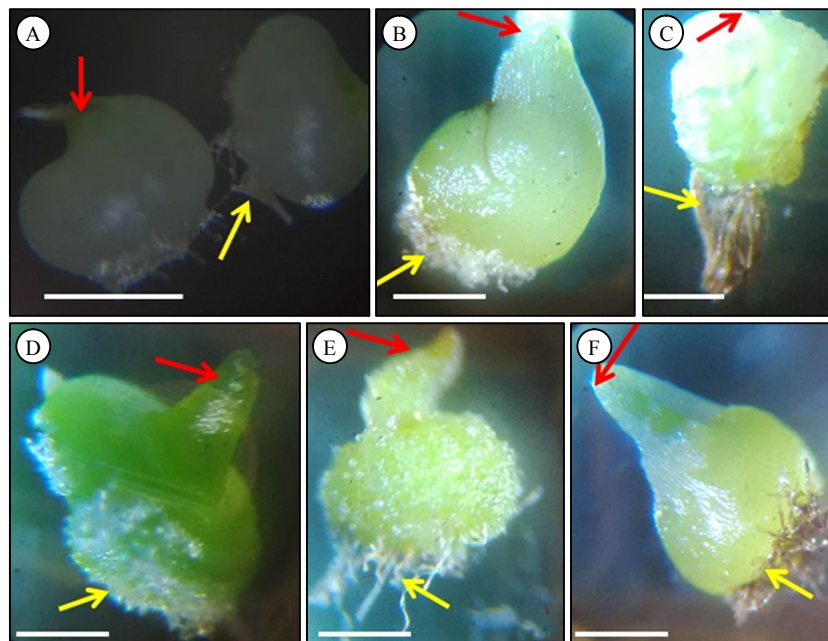
### Pertumbuhan Biji Anggrek pada Media *In Vitro*

Biji anggrek berukuran sangat kecil dengan kisaran antara 0,01–0,9 mm, dengan bobot setiap biji 0,31–24 µg. Jumlah biji setiap buah berkisar antara 20–4.000.000 biji (Arditti & Ghani 2000). *D. macrophyllum*, *D. liporinum*, *D. ceranaensis*, *D.*

*rigidifolium*, *D. sylfanum* “flava”, *D. albertisii*, *D. ametystoglossum*, *Amordorum sulingii*, *V. tricolor*, *V. insignis*, *V. feotida*, *N. falcata*, *A. graminifolia*, dan *S. vanoverberghii* merupakan anggrek yang memiliki persentase berkecambah yang tinggi (>90%). Anggrek seperti *P. parishii*, *D. affine*, *D. anosmum*, *D. spectabile*, *P. amabilis*, *P. rovinio*, *Ascocentrum*, *A. floaeris*, dan *Epidendrum* sp. memiliki jumlah biji sedikit, tetapi mampu tumbuh menjadi protokorm sekitar 50–85% (Gambar 4 dan



Gambar 4. Pertumbuhan biji anggrek menjadi protokorm pada media VW. A = protokorm *D. macrophyllum*, B = protokorm *P. parishii*, C = pertumbuhan biji *V. coerulea*, D = protokorm *A. floaeris*, E = protokorm *A. celebica*, F = biji *C. finlaysonianum* yang tidak tumbuh.



Gambar 5. Bentuk protokorm anggrek yang diamati. A = *D. anosmum*, B = *A. sulingii*, C = *A. graminifolia*, D = *D. ametystoglossum*, E = *P. mastersianum*, F = *D. sylfanum* “flava”. Calon tunas (panah merah), calon akar (panah kuning). Bar = 1 mm.

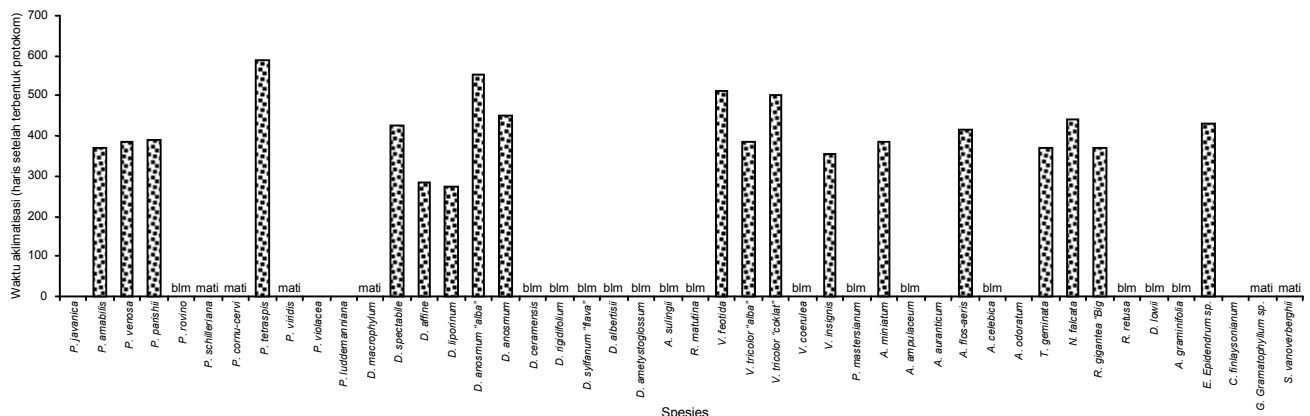
Tabel 1). Bentuk protokorm anggrek bervariasi dengan ukuran berkisar antara 1–3 mm (Gambar 5). Tahap awal perkecambahan ditandai dengan mengembangnya embrio dan tumbuh transparan (Gambar 5A), kemudian organ membentuk klorofil, sehingga protokorm berubah warna menjadi hijau pada semua anggrek. Tahap berikutnya ialah pembentukan *rhizoid* (Gambar 5, panah kuning) dan tunas/calun daun (Gambar 5, panah merah).

*P. violacea*, *P. luddemaniana*, *A. auranticum*, *Aerides odoratum*, dan *Cymbidim finlaysonianum* tidak mampu membentuk protokorm dalam media VW. Keberhasilan reproduksi seksual dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti kualitas polinia, jumlah polinia, dan letak pistil. Pemahaman mengenai reproduksi biologi pada anggrek dan pengaruhnya terhadap konservasi *in situ* maupun *ex situ* perlu dipelajari (Roberts 2003). Rendahnya produksi biji pada tanaman anggrek melalui *selfing* maupun *sibling* mungkin disebabkan oleh sterilitas jantan, kompetisi polinia asing (Neiland & Wilcock 1994a), bervariasinya kualitas polinia (Borba *et al.* 1999), dan kehadiran sifat letal

resesif (Johansen 1990; Tremblay 1994). Kualitas polinia akan menurun sehubungan dengan makin lamanya bunga anggrek mekar. Beberapa anggrek memiliki mekanisme untuk memaksimalkan keberhasilan reproduksi di bawah kondisi keterbatasan polinator sebelum maupun sesudah polinasi, termasuk memperpanjang periode efektifnya deposisi polinia pada stigma dan peningkatan kualitas biji melalui kompetisi polinia (Neiland & Wilcock 1994b).

### Aklimatisasi

Croezen (2002) melaporkan bahwa ukuran yang tepat untuk aklimatisasi planlet anggrek ketika daun berukuran 5 cm, sedangkan (Park *et al.* 2003) merekomendasikan ukuran ideal planlet untuk diaklimatisasi adalah ketika ukuran planlet 3–4 cm dengan 3–4 akar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebanyak 19 spesies dapat diaklimatisasi dengan kisaran waktu antara 272–552 hari setelah terbentuk protokorm (HSTP) dengan waktu aklimatisasi tercepat pada *D. liporinum* (272



Gambar 6. Keragaman waktu aklimatisasi pada 46 anggrek spesies terkoleksi.

Blm = protokorm/benih yang disebar belum dapat diaklimatisasi, mati = protokorm/benih yang disebar mati.



Gambar 7. Pertumbuhan tanaman anggrek yang berasal dari planlet yang telah diaklimatisasi pada media pakis. A = tanaman anggrek *Phalaenopsis* sp. B = tanaman anggrek *N. falcata*, dan C = tanaman anggrek *Ascocentrum miniatum*.

Tabel 1. Perkembangan dan pertumbuhan biji 46 spesies anggrek koleksi Balithi.

Genus	Spesies anggrek	Persentase terbentuknya protokorm
<i>Phalaenopsis</i>	<i>javanica</i>	5
	<i>amabilis</i>	50
	<i>venosa</i>	40
	<i>parishii</i>	50
	<i>rovino</i>	80
	<i>schilleriana</i>	30
	<i>cornu-cervi</i>	20
	<i>tetraspis</i>	20
	<i>viridis</i>	15
	<i>violacea</i>	-
	<i>luddemanniana</i>	-
<i>Dendrobium</i>	<i>macrophyllum</i>	>90
	<i>spectabile</i>	75
	<i>affine</i>	60
	<i>liporinum</i>	>90
	<i>anosmum</i> “alba”	50
	<i>anosmum</i> “pink”	50
	<i>ceramensis</i>	>90
	<i>rigidifolium</i>	>90
	<i>sylfanum</i> “flava”	>90
	<i>albertisii</i>	>90
	<i>ametystoglossum</i>	>90
<i>Amordorum</i>	<i>sulingii</i>	>90
<i>Renanthera</i>	<i>matutina</i>	30
<i>Vanda</i>	<i>tricolor</i> “alba”	>90
	<i>tricolor</i> “coklat”	>90
	<i>coerulea</i>	5
	<i>insignis</i>	>90
	<i>feotida</i>	>90
<i>Paphiopedillum</i>	<i>mastersianum</i>	10
<i>Ascocentrum</i>	<i>miniatum</i>	70
	<i>ampulaceum</i>	70
	<i>auranticum</i>	-
<i>Arachnis</i>	<i>flos-aeris</i>	65
	<i>celebica</i>	10
<i>Aerides</i>	<i>odoratum</i>	-
<i>Trichoglottis</i>	<i>geminata</i>	85
<i>Neofinetia</i>	<i>falcata</i>	>90
<i>Rhyncostilis</i>	<i>gigantea</i> “Big Spot”	40
	<i>retusa</i>	30
<i>Dimorphosis</i>	<i>lowii</i>	10
<i>Arundina</i>	<i>graminifolia</i>	>90
<i>Epidendrum</i>	<i>Epidendrum</i> sp	75
<i>Cymbidium</i>	<i>finlaysonianum</i>	-
<i>Gramatophyllum</i>	<i>Gramatophyllum</i> sp	3
<i>Spathoglottis</i>	<i>vanoverberghii</i>	>90

- biji tidak membentuk protokorm.

HSTP). Enam belas spesies belum dapat diaklimatisasi karena planlet yang masih kecil, 6 spesies mati, dan 5 spesies tidak membentuk protokorm/tidak berkecambah (Gambar 6 dan 7). Selain faktor genetik, keberhasilan aklimatisasi sangat ditentukan oleh faktor lingkungan, antara lain cahaya, kelembapan, suhu, serta kondisi pada saat tanaman

di dalam kultur *in vitro* (misal kandungan gula pada media) (Hazarika 2003).

Banyak spesies anggrek epifit maupun terrestrial yang telah berhasil diperbanyak secara asimbiotik *in vitro* menggunakan media yang bervariasi dan setiap spesies menggunakan media yang spesifik dan sebagian besar menyatakan bahwa media MS merupakan media yang terbaik



(Jualang *et al.* 2014; Khampa *et al.* 2010; Lesar *et al.* 2012). Media MS merupakan media dengan komposisi nutrisi yang paling lengkap dibanding dengan VW dan Knudson C. Namun, untuk anggrek-anggrek spesies tertentu penggunaan media lengkap menyebabkan pencokelatan protokorm. Pada penelitian ini terjadi pada anggrek *Rhyncostilis retusa*, *D. anosmum*, dan *R. matutina*. Banyak literatur menyatakan bahwa anggrek spesies akan berkecambah pada media yang kurang kompleks, misalnya media dengan kandungan nutrisi yang sedikit untuk pertumbuhan dan perkembangan (Rasmussen 1995). Perkecambahan biji pada anggrek *Paphiopedilum* dan *Cymbidium* memerlukan periode gelap. Setelah biji membengkak berwarna putih akan berubah berwarna hijau setelah dipindahkan ke tempat terang.

### KESIMPULAN

Terdapat 46 anggrek spesies alam yang mampu membentuk buah. Dari jumlah tersebut, 41 spesies di antaranya mampu membentuk protokorm dan 19 spesies dari 7 genus, yaitu *P. Dendrobium*, *Armadorum*, *Vanda*, *Neofinetia*, *Arundina*, dan *Spathoglottis* memiliki persentase pembentukan protokorm di atas 70%. Beberapa anggrek spesies alam seperti *P. javanica*, *V. coerulea*, *A. celebica*, *D. lowii*, dan *Grammatophyllum* sp. memiliki persentase membentuk protokorm yang rendah atau tidak dapat membentuk protokorm. Keberhasilan pembentukan protokorm dapat ditingkatkan dengan mengganti media dasar *in vitro* yang digunakan dengan media dasar lainnya atau dengan mengubah komposisi dasar maupun mengubah bahan organik yang digunakan pada media tersebut. Hasil penelitian ini memberikan implikasi mengenai peluang keberhasilan perbanyakan biji anggrek spesies alam dengan metode yang sederhana, tetapi efektif pada media VW untuk menunjang konservasi anggrek spesies.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Budi Marwoto atas bimbingannya dalam penulisan makalah. Penelitian ini didanai oleh

APBN Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian.

### DAFTAR PUSTAKA

- Arditti, J. (1982) Orchid seed germination and seedling culture-A Manual. In: J. Arditti (ed.) *Orchid biology: Reviews and perspectives II*. Ithaca-NY, Cornell University Press. pp. 243–370.
- Arditti, J. & Ghani, A.K.A. (2000) Tansley Review No. 110. Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *New Phytologist*, 145 (3), 367–421.
- Batty, A.L., Dixon, K.W., Brundrett, M. & Sivasithamparam, K. (2001) Constraint to symbiotic germination of terrestrial orchid seed in a mediterranean bushland. *New Phytologist*, 152 (3), 511–520.
- Borba, E.L., Shepherd, G.S. & Semir, J. (1999) Reproductive systems and crossing potential in three species of *Bulbophyllum* (Orchidaceae) occurring in Brazilian 'campo rupestre' vegetation. *Plant Systematics and Evolution*, 217, 205–214.
- Chou, L.C. & Chang, D.C.N. (2004) Asymbiotic and symbiotic seed germination of *Anoectochilus formosanus* and *Haemaria discolor* and their F<sub>1</sub> hybrids. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 45, 143–147.
- Cribb, J., Kell, S.P., Dixon, K.W. & Barrett, R.L. (2003) *Orchid conservation: A global perspective*. Kinabalu-Sabah, Natural History Publications (Borneo).
- Croezen P. (2002) *In vitro* orchid cultivation. *Orchid Mania Inc.* [Online] Available from: <http://www.orchids.org/conservation/inVitro.html> [Accessed 4 January 2017].
- Dutra, D., Kane, M.E. & Richardson, L. (2009) Asymbiotic seed germination and *in vitro* seedling development of *Cryptodium punctatum*: A propagation protocol for an endangered Florida native orchid. *Plant Cell Tissue Culture* 96, 235–243.
- Gusta, A.R., Hapsoro, D., Sa'diyah, N. & Yusnita (2011) Pengaruh media dasar dan benziladenin (BA) terhadap pembesaran *seedling* anggrek *Dendrobium in vitro*. *Jurnal Agrotropika*, 16 (2), 76–79.
- Harrison, C.R. (1977) Ultrastructural and histochemical changes during the germination of *Cattleya aurantiaca* (Orchidaceae). *Botanical Gazette (Chicago, Ill.)*, 138, 41–45.
- Harrison, C.R. & Arditti, J. (1978) Physiological changes during the germination of *Cattleya aurantiaca* (Orchidaceae). *Botanical Gazette (Chicago, Ill.)*, 139, 180–189.
- Hazarika, B.N. (2003) Acclimatization of tissue-cultured plants. *Current science*, 85 (12), 1704–1712.
- Islam, M.R., Kabir, K.M.R., Hossain, M.S., Hossain, M.F. & Khalil, M.I. (2014) Efficient *in vitro* cultural techniques

- for seeds germination of *Vanda roxburghii*. *World Journal of Agricultural Sciences*, 10 (4), 163–168
- Johansen, B. (1990) Incompatibility in *Dendrobium* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 103, 165–196.
- Johnson, T.R., Stewart, S.L., Daniela, D., Kane, M.E. & Richardson, L. (2007) Asymbiotic and symbiotic seed germination of *Eulophia alta* (Orchidaceae)-preliminary evidence for the symbiotic culture advantage. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 90, 313–323.
- Jualang, A.G., Devina, D., Hartinie, M., Sharon, J.S. & Roslina, J. (2014) Asymbiotic seeds germination and seedlings development of *Vanda dearei*. *Malaysian Applied Biology*, 43 (2), 25–33.
- Kauth, P.J., Kane, M.E., Vendrame, W.A. & Reinhardt-Adams, C. (2008) Asymbiotic Germination response to photoperiod and nutritional media in six population of *Calopogon tuberosus* var. *tuberosus* (Orchidaceae): Evidence for ecotypic differentiation. *Annals of Botany*, 102, 783–793.
- Khampa, S., Wangsomnuk, P. & Wangsomnuk, P. (2010) Factors affecting seed germination of *Grammatophyllum speciosum* cultured *in vitro*. *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 18 (1), 193–197.
- Lesar, H., Nataša, C., Damijana, K. & Zlata, L. (2012) Asymbiotic seed germination of *Phalenopsis* Blume orchids after hand pollination. *Acta Agriculturae Slovenica*, 99 (1), 5–11.
- Malmgren, S. (1992) Large-scale asymbiotic propagation of *Cypripedium calceolus* plant physiology from a surgeon's point of view. *Botanical Garden Micropropagation News*, 1, 59–63.
- McKendrick, S. (2000) *In vitro* germination of orchids: A manual. US, Ukuador, Ceiba Foundation for Tropical Conservation. [Online] Available from: [http://orchideenvermehrung.at/downloads/seed\\_sowing\\_manual.pdf](http://orchideenvermehrung.at/downloads/seed_sowing_manual.pdf) [Accessed 4 January 2017].
- Nagashima, T. (1993) Studies on the relationship between embryogenesis and germination in the Orchidaceae. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 62, 581–594.
- Neiland, M.R.M. & Wilcock, C.C. (1994a) Reproductive ecology of European Orchidaceae. In: Pridgeon, A.M. (ed.) *Proceedings of the 14<sup>th</sup> World Orchid Conference*. Edinburgh, HMSO. pp. 138–147.
- Neiland, M.R.M. & Wilcock, C.C. (1994b) The presence of heterospecific pollen on stigmas of nectariferous and nectarless orchids and its consequences for their reproductive success. *Protoplasma*, 208, 65–75.
- Park, S.Y., Murthy, H.N. & Paek, K.Y. (2003) Protocorm-like body induction and subsequent plant regeneration from root tip cultures of *Doritaenopsis*. *Plant Science*, 164, 919–923.
- Paudel, M., Pradhan, S. & Pant, B. (2012) *In vitro* seed germination and seedling development of *Esmeralda clarkei* Rehb.f. (Orchidaceae). *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 22 (2), 107–111.
- Prakash, B., Khan, S. & Bais, R.T. (2012) Effect of different media on *in vitro* seed germination and protocorm formation of *vanda tessellata* (Roxb.) Hook. Ex. G. Don an endangered medicinal orchid. *Researcher*, 4 (12), 72–76.
- Rasmussen, H.N. (1995) *Terrestrial orchid from seed to mycotrophic plant*. UK, Cambridge University Press.
- Rasmussen, H.N., Dixon, K.W., Jersacova, J. & Tesitelova, T. (2015) Germination and seedling establishment in orchids: A complex of requirements. *Annals of Botany*, 116 (3), 391–402.
- Raghavan, V. & Torrey, J.G. (1964) Effects of certain growth substances on the growth and morphogenesis of immature embryos of capsella in culture. *Plant Physiology*, 39 (5), 691–699.
- Roberts, D.L. (2003) Pollination biology: The role of sexual reproduction in orchid conservation. In: Dixon, K.W., Kell, S.P., Barrett, R.L. & Cribb, P.J. (eds.) *Orchid Conservation*. Kinabalu-Sabah, Natural History Publications. pp. 113–136.
- Rubulo, A., Cha'ves, V. & Martinez, A. (1989) *In vitro* seed germination and re-introduction of *Bletilla urbana* (Orchidaceae) in its natural habitats. *Lindleyana*, 4 (2), 68–73.
- Shibu, S.B., Devi, C.B., Wesley, S.P. & Moin, S. (2012) *Ex situ* conservation of endemic of western ghats, Tamilnadu, India via asymbiotic seed germination. *Advances in Applied Science Research*, 3 (5), 3339–3343.
- Thomas, S. & Schuiteman, A. (2002) Orchids of Sulawesi and Maluku: A preliminary catalogue. *Lindleyana*, 17, 1–72.
- Tremblay, R.L. (1994) Frequency and consequences of multi-parental pollination of *Cypripedium calceolus* var. *pubescens* (Orchidaceae). *Lindleyana*, 9, 161–167.
- Vacin, E.F. & Went, F.W. (1949) Use of tomato juice in the asymbiotic germination of orchid seeds. *Botanical gazette*, 111 (2), 174–183.
- Wei, H.C., Pan, Y.G. & Qiu, H.Y. 2003. Research advances in effects of 1-methylcyclopropene treatment on postharvest physiology and quality of postharvest fruits and vegetables. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 22, 307–312.